

Aus der Abteilung für Angewandte Physiologie
(Leiter: Prof. Dr. med. W. Blasius)
des Physiologischen Institutes
(Direktor: Prof. Dr. med. R. Thauer)
der Justus Liebig-Universität Gießen

Über die gesetzmäßigen Änderungen physiologischer
und ultrastruktureller Größen der motorischen
Vorderhornzellen des Kaninchenrückemarks
unter abgestufter Ischaemie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Wolfgang Brune
aus Jena

Gießen 1970

Aus der Abteilung für Angewandte Physiologie
(Leiter: Prof. Dr. med. W. Blasius)
des Physiologischen Institutes
(Direktor: Prof. Dr. med. R. Thauer)
der Justus Liebig-Universität Gießen

Über die gesetzmäßigen Änderungen physiologischer
und ultrastruktureller Größen der motorischen
Vorderhornzellen des Kaninchenrückenmarkes
unter abgestufter Ischaemie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Wolfgang Brune
aus Jena

Gießen 1970



Dekan : Prof. Dr. E.R. Habermann
Referent : Prof. Dr. W. Blasius
Korreferent : Prof. Dr. Dr. H. Hager

Inhalt

A. <u>Einleitung</u>	...2...
B. <u>Methodik</u>	
I. Physiologische Methodik	...5...
II. Elektronenmikroskopische Methodik	...11...
C. <u>Ergebnisse</u>	
I. Physiologische Ergebnisse	...15...
a) Die funktionale Verknüpfung der maximalen Funktionszeit F_m bzw. der Abklemmdauer A mit dem Energiequotienten q	...15...
b) Die Beziehung von F_m zu dem relativen Leistungsaufwand La der Vorderhornanglienzelle	...19..
c) Die zeitliche Abhängigkeit der Schwundzeit S von der Abklemmdauer A	...20...
d) Die Beziehung des Erholungsaufwandes der Ganglienzellen E_a zur Abklemmdauer A	...22...
II. Morphologische Änderungen der Mitochondrien der motorischen Vorderhornzellen unter abgestufter Ischaemie	...23...
D. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	
I. Besprechung der physiologischen Ergebnisse	...30...
II. Besprechung der morphologischen Ergebnisse	...36...
III. Versuch einer Verknüpfung der physiologischen und der morphologischen Ergebnisse	...44...
E. <u>Zusammenfassung</u>	...47...
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	...50...

A. Einleitung

Mit der Drosselung der Blutzufuhr zu den motorischen Zentren des Rückenmarkes, ein Versuch, der erstmalig von S t e n s e n und S w a m m e r d a m 1667 vorgenommen, aber in seiner Wirkung verkannt wurde, ist der physiologischen Beobachtung eine Methode an die Hand gegeben, welche es erlaubt, die Leistungs- und Erholungsfähigkeit der Ganglienzellen noch im physiologischen Zusammenhang mit ihren Erregungs- und Erfolgsorganen untersuchen zu können.

Erst im 19. Jahrhundert wurde aufgeklärt, daß der nach Ischaemie des Lumbalmarkes eintretende Sehnenreflexverlust, z.B. des Patellarsehnenreflexes, primär auf die Ischaemie der grauen Substanz des Rückenmarkes zurückzuführen ist, und daß Nervenstämmen und die von diesen innervierten Muskeln erst sehr viel später einer ischaemischen Lähmung anheimfallen. S c h i f f e r wies auf diese Zusammenhänge erstmalig 1869 hin; er war es auch, der genauere Untersuchungen über den Grad des Erhaltenbleibens der Blutzirkulation nach Aortenabklemmung im Rückenmark durchführte. Er schuldigte den Mangel an Gefäßanastomosen des Rückenmarkes für die Anfälligkeit gegen eine abdominelle Aortenunterbindung an.

Histologische Untersuchungen über die irreversiblen Schädigungen an den Ganglienzellen des Rückenmarkes nach Ischaemie wurden von E h r l i c h und B r i e g e r sowie von S i n g e r durchgeführt. Sie fanden bei einstündiger Drosselung der Blutzufuhr eine völlige Zerstörung der Ganglienzellen im Lumbalmark, jedoch ein Erhaltenbleiben der Hinterstränge, Spinalganglien und der vorderen Wurzeln.

In den nächsten Jahren wurden dann von C o l s o n und F r e d e r i c q, besonders bei kurzfristiger Ischaemie, Änderungen der Funktion des Rückenmarkes gefunden; sie stellten bei ihren Untersuchungen fest, daß vor der sensiblen Lähmung der Rückenmarkstrukturen die motorische eintrat, und zwar in einem zeitlichen Abstand von etwa zwei Minuten.

In späteren Untersuchungen von B l a s i u s wurden nach einer von ihm entwickelten Methodik besonders das Verhalten der "maximalen Funktionszeit" F_m 1950 bzw. "Funktionserhaltungszeit" 1962 unter zeitlich abgestufter Ischaemie am Rückenmark untersucht. B l a s i u s gelang es 1950 erstmalig, gesetzmäßige Beziehungen zwischen der F_m - Zeit und der auf diese folgende Schwundzeit S_{F_m} , das ist die Zeit, in der nach Beendigung der Ischaemie die Reflexe nicht mehr ausgelöst werden können, herzustellen.

Etwa zur gleichen Zeit wurden von K r o g h 1945 mit Hilfe der Isotopenmethode die Blutströmungsverhältnisse im Rückenmark nach Ischaemie untersucht. Es gelang ihm, nur eine äußerst langsame Restströmung als Folge einer kurzfristigen Ischaemie nachzuweisen. K r o g h richtete 1950 weiterhin auch sein Augenmerk auf die histologischen Veränderungen der großen motorischen Ganglienzellen, die nach einer Abklemmzeit von etwa 17 - 22 Minuten vollständig nekrotisierten.

B l a s i u s und Z i m m e r m a n n gelang es, in ausgedehnten Untersuchungen 1957 und 1958 zu zeigen, daß die Ischaemietoleranz der Ganglienzellen, meßbar in der Größe der F_m - Zeit, mit physiologisch und histochemisch faßbaren Veränderungen der Ganglienzellen und des Blutes gesetzmäßig verknüpft ist. So wurden erstmalig quantitative funktionale Beziehungen zwischen dem Glykogengehalt der Ganglienzellen, dem Hämoglobingehalt des Blutes und der F_m - Zeit gefunden. Ferner gelang es B l a s i u s 1950, die Einflüsse einer variablen Abklemmzeit, einer dosisabhängigen Narkosetiefe, einer Hypoxie des Gesamtorganismus und einer künstlich erzeugten Hypothermie auf die Leistungs- und Erholungsfähigkeit der Ganglienzellen als gesetzmäßig darzustellen. Weitere Untersuchungen wurden von B l a s i u s und B l a s i u s und Mitarbeitern 1951, 1952 und 1954 über die gesetzmäßigen physiologischen Wirkungen von Adrenalin und Noradrenalin auf das Verhalten der F_m - und S_{F_m} - Zeiten ausgeführt.

Schließlich wurden von B l a s i u s und B l a s i u s und Mitarbeitern 1955 und 1966 gesetzmäßige Beziehungen zwischen der Änderung der F_m - Zeit und der Zuckungshöhe sowie des zeitlichen Verlaufes der gesamten Reflexzuckung, als auch funktionale Beziehungen zwischen den Reflexpotentialen und den F_m - und S_{F_m} - Zeiten der Vorderhornganglienzellen hergestellt.

Während B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 sowie K r o g h 1950 ihr Augenmerk auf lichtmikroskopisch und histochemisch erfaßbare Veränderungen an den Vorderhornganglienzellen nach Ischaemie richteten, untersuchte M e r k e r 1969 den Einfluß abgestufter Ischaemiezeiten auf die Ultrastruktur der motorischen Vorderhornzellen am Kaninchen, um mit Hilfe der Elektronenmikroskopie erste Wirkungen einer Ischaemie zu erfassen. Es gelang ihr, abstuftbare Strukturänderungen an den Mitochondrien und auch solche am endoplasmatischen Reticulum, die aber quantitativ weniger gut faßbar waren, zu finden; während die Synapsen und ihre Mitochondrien kaum durch eine Ischaemie bis zu 30 Minuten Dauer betroffen wurden.

Unsere neuerlichen Untersuchungen hatten einerseits das Ziel, die von B l a s i u s 1950 gefundenen Beziehungen bezüglich der Veränderungen der maximalen Funktionszeit unter Ischaemiebedingungen nachzuprüfen. Andererseits wollten wir in einem Zeitraum, der größer als die Funktionserhaltungszeit war, aber noch innerhalb der Struktur-erhaltung lag, auch die Erholungsfähigkeit der Ganglienzellen nach Ischaemie ausführlicher untersuchen.

Ferner lag es in unserer Absicht, zu prüfen, ob im Ablauf der ultrastrukturellen Änderungen der Ganglienzellen Gesetzmäßigkeiten bestünden, und ob diese in irgendeiner Form den physiologischen Größen zuzuordnen seien.

Zu diesem Zweck erschien es uns nützlich, die 1950 von B l a s i u s angegebene Methodik zu erweitern und mit einer ultramorphologischen Untersuchungstechnik, die eine Auswertung nach morphometrischen Gesichtspunkten entsprechend dem Verfahren von S i t t e gestattet, zu kombinieren.

Eine derartige Kombination physiologischer und ultrastruktureller Untersuchungsverfahren am Objekt der Ganglienzellen des Rückenmarkes ist nach Kenntnis der einschlägigen Literatur völlig neuartig und verspricht tiefere Einblicke in die Wirkungsbedingungen der Ischaemie an den Ganglienzellen, als dies bisher möglich war.

B. Methodik

I. Physiologische Methodik

Das Ziel unserer physiologischen Methodik war es, das Lumbalmark des Kaninchens einer abgestuften Ischaemie durch temporäre Abklemmung der Aorta abdominalis zu unterwerfen. Die dabei zu erwartenden Änderungen der Tätigkeit der Vorderhornzellen sollten durch Auslösung des Quadriceps - Eigenreflexes dargestellt und meßbar gemacht werden. Dazu wurde der Reflex in gleichmäßigem Takt durch ein Reflexhammerwerk ausgelöst. Die Ausschläge des Kaninchenunterschenkels ließen sich über eine Seilzugtransmission auf ein Drehpotentiometer und von diesem über eine Verstärkerschaltung auf einen Oscillographen übertragen.

Als Versuchstiere (VT) dienten bei den Untersuchungen 31 Stallkaninchen beiderlei Geschlechtes, von denen 11 Tiere für die morphologische Versuchsreihe benutzt wurden. Das Alter der Tiere lag zwischen 7 und 10 Monaten, ihr Gewicht zwischen 2,8 und 4,4kg. Alle VT wurden vor Beginn der Versuche 24 Stunden lang nicht gefüttert, um eine zu starke Füllung des Magens zu verhindern, die die Anlegung des Aortenstempels erschwert hätte. Eine Stunde vor der Laparatomie wurden die Tiere mit einer 25%igen Urethan-Lösung in einer Dosierung von 0,75g/kg Körpergewicht durch subkutane Injektion unter die Rückenhaut narkotisiert.

Nach Laparatomie (Medianschnitt vom Proc. xiphoideus entlang der Linea alba) wurde eine Vorlagerung der Darmschlingen vorgenommen. Über der Bauchaorta ließ sich entsprechend dem Verfahren von B l a s i u s ein Leichtmetallstempel mit Gummipolsterung (10g Gewicht) mit Hilfe eines Catgutfadens, der durch Teile des M. iliopsoas mit einer gekrümmten Nadel nach D e s c h a m p s geführt war, locker fixieren.

Die Abklemmstelle wurde oberhalb des Tripus Halleri gewählt, um mit Sicherheit beim Ischaemieversuch sämtliche Motoneuren des Lumbalmarkes von der Blutzufuhr abzuschneiden, die für die Übermittlung des Quadriceps-Eigenreflexes verantwortlich sind.

Nach Zurücklagerung der Darmschlingen wurde die Bauchwunde provisorisch mit Klemmen verschlossen, um die physiologischen Verhältnisse der Abdominalorgane möglichst wiederherzustellen. Die Aorta abdominalis konnte nunmehr durch Druck auf den gummigepolsterten Stempel leicht, sicher und zeitlich genau begrenzt verschlossen werden. Wurde der Stempel wieder freigegeben, so öffnete der Blutstrom augenblicklich den vorher blutleeren Aortenteil, und das Blut strömte wieder in das Lumbalmark.

Die Femurkondylen des linken Kaninchenbeines wurden in Rückenlage des Tieres in einer fest mit dem Operationstisch verbundenen Eisenklammer eingespannt, wobei der Oberschenkel in etwa rechtwinkliger Beugestellung fixiert wurde. Die Auslösung des Quadriceps-Eigenreflexes erfolgte mit einem Reflexhammer, der einen vorn spitzzulaufenden Gummikeil besaß und mit einem durch einen Synchronmotor angetriebenen Hammerwerk in gleichmäßigem Takt Schläge auf die Patellarsehne des Tieres ausführte. Die Fallhöhe wurde bei einer Schlagfrequenz von 1/sec so eingestellt, daß die Reflexamplitude maximal war. Die Registrierung der Ausschläge des Kaninchenbeines bei Auslösung des Reflexes erfolgte mechano-elektrisch, und zwar über eine nicht dehnbare Glasfiberschnur, welche unter der

Achillessehne des Tieres durchgeführt wurde und über eine Rolle ein Drehpotentiometer bewegte. Am Ende des Seilzuges befand sich eine Feder, die die Rückkehr des Drehpotentiometers in die Nullage bewirkte. Diese Feder war in einen Markierungsring eingespannt, der den Ausschlag des Kaninchenbeines auf einer Skala in Millimetern abzulesen gestattete. Die Ausschläge des batteriegespeisten Drehpotentiometers konnten über einen Vorverstärker (Herstellung: H. Matthies, Bad Nauheim) direkt auf einem Kathodenstrahl-oscillographen (Multitrace-Recorder der Fa. Electronics for Medicine, New York) sichtbar gemacht werden(Abb.1a u.b)

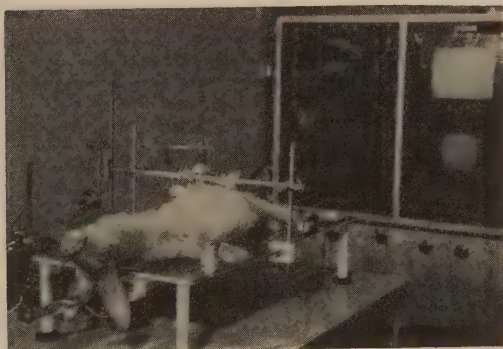


Abb.1a Übersicht der Einrichtungen zur Halterung des Versuchstieres, zur laufenden Kontrolle der Reflexausschläge auf einem Sichtschirm und zu deren Registrierung



Abb.1b Teilansicht der Versuchsanordnung mit Beinhalterung des Tieres, mit Reflexhammer, sowie mit Seilzug und Vorverstärker zur Registrierung der Reflexausschläge

Die Eichung der Registriereinrichtung wurde vor jedem Versuch so vorgenommen, daß ein simultierter Ausschlag des Kaninchenbeines von 10mm einem Ausschlag auf dem Oscillographen von 80mm entsprach. Eine vorherige Prüfung der Registriereinrichtung hatte ergeben, daß in jedem Bereich der Bewegung eine einwandfreie, lineare Verzeichnung der Ausschläge möglich war (siehe Abb.2).

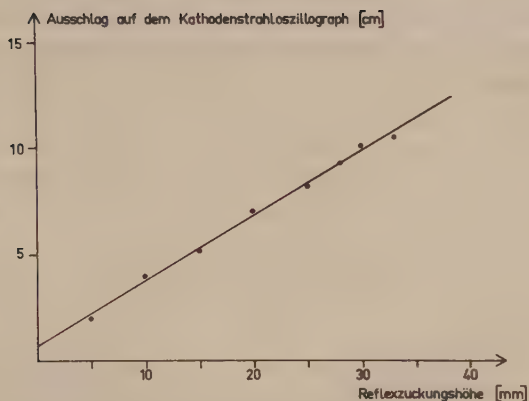


Abb.2 Eichkurve bei simulierter Aufzeichnung der Ausschläge des Seilzuges mit Drehpotentiometer, Vorverstärker und Kathodenstrahloszillograph
(- ausgezogene Gerade = Mittelwerte der Versuchspunkte)

Da mit dem Oscillographen ein synchron arbeitendes Photokymographion gekoppelt war, konnten die Reflexausschläge des Kaninchenbeines gleichzeitig am Oscillographen beobachtet und photographisch registriert werden.

Als Kriterien für die Leistungs- und Erholungsfähigkeit der Vorderhornanglienzellen des Lumbalmarkes wurden nach der Methode von B l a s i u s 1950 zunächst die F_m - und S_{F_m} -Zeiten in zwei Abklemmvorsuchen bestimmt, die in einem zeitlichen Abstand von mindestens 10 Minuten vorgenommen wurden. Dabei wurden die Reflexausschläge während der F_m -Zeit photographisch aufgezeichnet. Mit einem Scheibenplanimeter (Fa. Ott) wurde die Fläche der von der Hüllkurve während der F_m -Zeit umschlossenen Reflexausschläge als sogenannte RI_{F_m} -Wert ermittelt.

Der Quotient aus dem I_{Fm} -Wert und der größten Reflexamplitude h_{max} während der Fm -Zeit wurde dann rechnerisch als sogenannter relativer Leistungsaufwand La bestimmt (siehe Abb.3).



Abb.3 Halbschematische Darstellung der Reflexausschläge des Quadriceps-Eigenreflexes nach Abklemmung der Bauchaorta zur Bestimmung folgender Größen:

- Fm = maximale Funktionszeit
- S_{Fm} = Schwundzeit nach Lösung der Aortenklemme
- h_{max} = maximaler Reflexausschlag während der Fm -Zeit
- I_{Fm} = Hüllkurvenfläche aller Reflexausschläge während der Fm -Zeit
- La = Leistungsaufwand (Quotient aus I_{Fm} und h_{max})
- Ea = Erholungsaufwand (Hüllkurvenfläche aller Reflexausschläge für die Dauer von 60sec nach Ende der Schwundzeit)

Für die vergleichenden Untersuchungen wurden zwei Versuchsreihen angelegt. Bei den physiologischen Versuchen wurde das Rückenmark der Tiere einer steigenden Ischaemie von 2,0; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 Minuten unterworfen. Nach Ischaemieende wurde die Zeit bis zur

Wiederkehr des Reflexes (Schwundzeit S) bestimmt und anschließend die progressiv wiederkehrende Reflexfähigkeit photokymographisch 60sec lang registriert. Die von der Hüllkurve umschlossene Fläche der in der Erholungszeit registrierten Reflexausschläge, die jeweils über den Zeitraum von 60sec aufgezeichnet wurden, konnten mit dem Scheibenplanimeter als Wert des sogenannten Erholungsaufwandes E_a der Ganglienzellen bestimmt werden (siehe Abb.3).

II. Elektronenmikroskopische Methodik

Bei den morphologischen Versuchen wurden 11 VT zur Auswertung der Ultrastruktur der Ganglienzellen unmittelbar nach dem Ende der jeweiligen Ischaemiezeit (2,0 - 30,0 Minuten) auf einen zweiten Operationstisch umgelagert, der in einem besonders angefertigten, von allen Seiten durchsichtigen Abzug untergebracht war. Diese Einrichtung war zum Schutz des Versuchsleiters und seiner Mitarbeiter gegen die giftigen Glutaraldehyd-Dämpfe notwendig, die bei der Perfusion dieses Stoffes zum Zwecke der Gewebsfixation auftraten.

Für die Perfusion der Glutaraldehydlösung in das Herz des Tieres mußte eine Thorakotomie vorgenommen werden. Dabei wurde der Thorax des Versuchstieres linksseits des Sternums in einer Fläche von ca. 4 x 5cm geöffnet, sodann das Pericard eröffnet und eine Kanüle mit 2mm Innendurchmesser in den linken Ventrikel eingestochen. Nach Kontrolle der Durchgängigkeit der Kanüle, die mit dem geheizten Perfusionssystem über einen Kunststoffschlauch verbunden war, wurde das rechte Herzohr aufgeschnitten. Das dabei aus dem rechten Vorhof ausströmende Blut wurde sogleich mit einem Absauger über eine Waschflasche aus dem Brustraum entfernt. Die Dauer dieses Eingriffes betrug durchschnittlich 5 Minuten. Die Phase der anschließenden Perfusion des Kaninchens mit physiologischer NaCl-Lösung von 37°C zur Auswaschung der Blutzellen (unter

einem konstanten Druck von 120mm Hg) dauerte etwa 2 - 3 Minuten. Auf diese Weise blieb die Herzaktion des Tieres bis zum Beginn des Einstromens der 5%igen Glutaraldehydlösung in den Kreislauf (angesetzt mit Phosphat-Puffer nach S ö r e n s e n: pH von 7,4) nach dem Verfahren von S a b a t i n i voll erhalten. Bei der von uns gewählten Methodik betrug die Manifestationszeit somit ca. 8 Minuten.

Die Dauer der Perfusion der Fixationslösung betrug durchschnittlich 15 Minuten. Im Verlauf dieser Zeit trat der Tod des Tieres ein.

Anschließend erfolgte nach einer Laminektomie die Präparation des Rückenmarkes im Lendenwirbelsäulenbereich zwischen den Lumbalsegmenten L I - L VII. Die entsprechenden Rückenmarkssegmente wurden exidiert und als kleine Stücke in einer 5%igen Glutaraldehydlösung für weitere 25 Minuten nachfixiert. Danach wurden die Gewebeproben in Phosphat-Saccharose-Puffer bei 4°C ausgewaschen und in einer 1%igen OsO_4 -Lösung in Phosphat-Saccharose-Puffer für zwei Stunden bei Zimmertemperatur nachbehandelt.

Die Einbettung der Präparate wurde nach Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe über Propylenoxyd in Epon (nach L u f t) oder Araldit vorgenommen. Dünnschnitte der Gewebstücke wurden mit einem Ultramikrotom (Porter-Blum-MT II) mit Glasmessern hergestellt. Von jedem Rückenmarkssegment wurden ca. 60 Schnitte angefertigt. Die Kontrastierung wurde mit Bleihydroxyd nach dem Bleimonoxydverfahren von K a r n o v s k y durchgeführt. Als Elektronenmikroskop diente das Elmiskop I (Fa. Siemens) mit einer Strahlspannung von 60 KV. Durch photographische Nachvergrößerung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen auf das Vierfache wurde ein Abbildungsmaßstab von 1:56000 erzielt. Lichtmikroskopische Kontrollen wurden an Ultramikrotom-Dickschnitten ($0,5\mu$) vorgenommen.

Ihre Färbung wurde erstens mit Methylenblau Azur II nach R i c h a r d s o n, zweitens mit den von G r i m l e y u.a. 1965 beschriebenen Färbemethoden: Voroxydation mit 5% KMnO_4 , dann Toluidinblau, "Tribasic Stain" oder "Mac Callum's Stain" durchgeführt. Die Präparate wurden mit dem

Orthomat-Ortholux-Photomikroskop (Leitz) ausgewertet. Der Abbildungsmaßstab dieser Vergrößerungen erlaubte es, das Ausmaß der metabolischen Leistungsfähigkeit der Mitochondrien in den Motoneuren, die für die Überleitung des Quadriceps-Eigenreflexes die Umschaltstelle darstellen, zu bestimmen.

Dazu bedienten wir uns der ultramorphometrischen Methode des Punktzählverfahrens nach S i t t e. Mit dieser war es möglich, den Quotienten aus den Sc- und Vm-Werten der Mitochondrien zu berechnen, wie es nachfolgend beschrieben wird. Diesen Sc/Vm Quotienten benutzten wir somit als Meßgröße für die Leistungsfähigkeit des Stoffwechsels der Mitochondrien. Dabei stellt die Größe Vm das Mitochondrienvolumen dar, das von der äußeren Mitochondrienmembran umschlossen wird. Es wird durch die Zahl derjenigen Kreuzpunkte des Rasters mit dem Abstand a bestimmt, die in diesen Raum fallen; Kreuzpunkte auf der äußeren Mitochondrienmembran werden daher mitgezählt. Die Zahl der Sc-Punkte wurde durch Auszählung der Schnittpunkte der Rasterlinie mit den Cristae mitochondriales gewonnen. Das für die Auszählung benutzte Gitterraster wies einen Gitterabstand von $a = 5,6\text{mm}$, entsprechend $0,1\mu$ am Objekt, auf. Ein Beispiel gibt die schematische Skizze Abb.4.

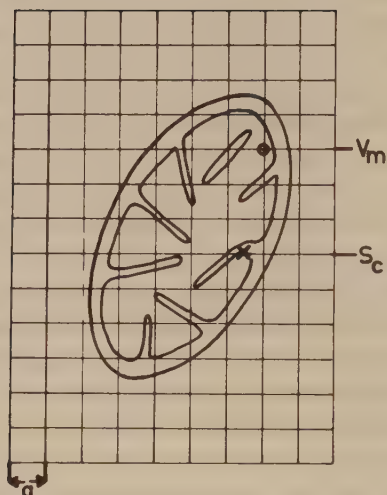


Abb.4 Schematische Darstellung der Ermittlung des Sc/V_m Quotienten nach dem Punktzählverfahren von S i t t e.

Sc = Schnittpunkte des Rasters mit den Cristae mitochondriales (33 Schnittpunkte)

V_m = relatives Volumen der Mitochondrien, bestimmt aus den Rasterkreuzpunkten, die in das Innere des Mitochondrium fallen (32 Kreuzpunkte).

Sc/V_m im vorliegenden Fall : $33/32 = 1,030$.

Rasterabstand $a = 0,1 \mu$

C. Ergebnisse

T. Physiologische Ergebnisse

Die Versuchswerte, die sich bei den Versuchen mit zeitlich abgestufter Ischaemie des Rückenmarkes fanden (siehe Tab. I und II), ließen sich jeweils zu folgenden Aussagen gruppieren:

a) Die Ergebnisse kurzfristiger Abklemmversuche und die dabei bestimmten F_m - und S_{F_m} -Zeiten und die aus diesen errechneten Größen sollten mit den früheren Ergebnissen von B l a s i u s verglichen werden,

b) die Relation der maximalen Funktionszeit F_m zu dem relativen Leistungsaufwand I_a der Ganglienzellen sollte entwickelt werden,

c) die Beziehungen zwischen der Ischaemiedauer A und den nach Beendigung der Ischaemie ermittelten Schwundzeiten S in einem Bereich der Ischaemiezeiten bis zu 900 Sekunden sollten dargestellt werden,

d) die Abhängigkeit des Erholungsaufwandes E_a der Ganglienzellen von der Dauer der Ischaemiezeit A sollte ermittelt werden, und zwar innerhalb des Bereiches der Strukturerhaltungszeit der Ganglienzellen.

a) Die funktionale Verknüpfung der maximalen Funktionszeit F_m bzw. der Abklemmdauer A mit dem Energiequotienten q

B l a s i u s fand 1950 auf Grund seiner Versuche, daß bei Abklemmungen unterhalb des Abganges der Nierenarterien für die Abhängigkeit der Schwundzeit S von der Abklemmzeit A die Gleichung

$$S = e^q \cdot A + c \quad (1)$$

gültig ist.

Die Schwundzeit S ist dabei die Zeitspanne, die zwischen dem Verschwinden des Reflexes und seiner Wiederkehr verstreicht. Der Wert e bedeutet die Basis des natürlichen Logarithmen-systems und q einen Energiequotienten, der nach B l a s i u s den reziproken Leistungszustand der Ganglienzellen im Vorderhorn des Rückenmarkes darstellt. So stehen die F_m -Zeit und der Energiequotient q nach B l a s i u s in einer funktionalen Beziehung, die einer höheren Hyperbel folgender Form entspricht:

$$F_m = p \cdot q^{-n} + b \quad (2)$$

Dabei gelten für Ausgangsbedingungen die Parameter $p = 0,1$ und $n = 2,0$; die Größe b ließ Schwankungen zwischen 10,0 und 20,0 bei den einzelnen Versuchstieren erkennen, und zwar bei Versuchen mit Abklemmung oberhalb des Tripus Halleri $p = 0,105$ und $n = 2,0$ sowie $b = 12,7$. Die Werte der vorliegenden Versuche betrugen $p = 0,097$; $n = 2,0$ und $b = 13,25$. Durch unsere Versuche konnte die Gültigkeit der von B l a s i u s 1950, 1957 gefundenen Gesetzmäßigkeiten erneut bestätigt werden.

Die q -Werte wurden von B l a s i u s für den Fall, daß $A = F_m$ und damit $S = S_{F_m}$ wird, nach folgender Formel berechnet:

$$q = \frac{\log S_{F_m}}{F_m \cdot \log e} = \frac{\ln S_{F_m}}{F_m} \quad (3)$$

In Abb.5 ist die nach Formel (2) bestehende Beziehung zwischen F_m und q für die Werte der vorliegenden Versuche dargestellt.

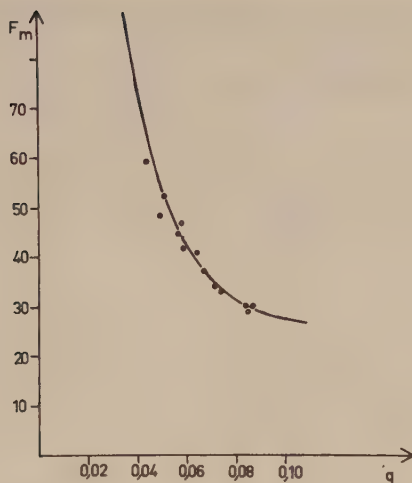


Abb.5 Abhängigkeit zwischen Fm-Zeit und Energiequotient q für den Bereich der Funktionserhaltungszeit
 o = Mittelwerte jeweils zweier Abklemmversuche bei einem Kaninchen (13 VT)
 — Mittelwertskurve für alle 26 Versuche entsprechend Gleichung (2)

Nach B l a s i u s 1957 läßt sich in längerfristigen Ischaemieversuchen für den Bereich, in dem A größer als Fm ist (A bis zu 900sec), der q-Wert der Ganglienzellen ebenfalls nach Formel (1) errechnen. Dabei gilt eine Beziehung analog der Gleichung (2), in der jedoch A an Stelle von Fm gesetzt wird:

$$A = p \cdot q^{-n} + b \quad (4)$$

Bei rechnerischer Behandlung der vorliegenden Versuche wurden folgende Parameter gefunden:

p = 0,0485; n = 2,0 und b = 104,0.

B l a s i u s 1957 fand in Versuchen mit einer Abklemmstelle unterhalb des Tripus Halleri die Werte:

p = 0,0394; n = 2,0 und b = 37,13; bei einer Abklemmstelle oberhalb des Tripus Halleri die Werte:

p = 0,043; n = 2,0 und b = 76,0.

Auch für diese Verhältnisse bei den längerfristigen Abklemmzeiten ließ sich die von B l a s i u s 1957 gefundene Beziehung bestätigen (siehe Abb.6).

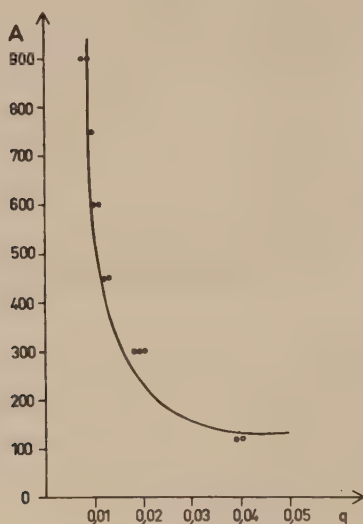


Abb.6 Abhängigkeit des Energiequotienten q von der Abklemmzeit A unter der Bedingung abgestufter, langfristiger Ischaemie (2 - 15 Minuten).

o = Einzelwerte von 13 Versuchen an 13 Kaninchen
 — Mittelwertskurve aller Versuche entsprechend Gleichung (4)

b) Beziehung zwischen F_m und dem relativen Leistungsaufwand L_a

Zwischen den maximalen Funktionszeiten und dem relativen Leistungsaufwand L_a , der als Quotient aus der Fläche der Hüllkurve der Reflexausschläge I_{F_m} und der maximalen Reflexamplitude $h_{\max}$ während der F_m -Zeit berechnet wird (Tab. II), ergibt sich eine Beziehung, die approximiert der Hyperbel-Form

$$F_m = g_1 - m \cdot \frac{1}{L_a - d_1} \quad (5)$$

entspricht. Die Parameter wurden näherungsweise mit $g_1 = 28$; $m = 1,51$ und $d_1 = 5,4$ ermittelt (siehe Abb. 7).

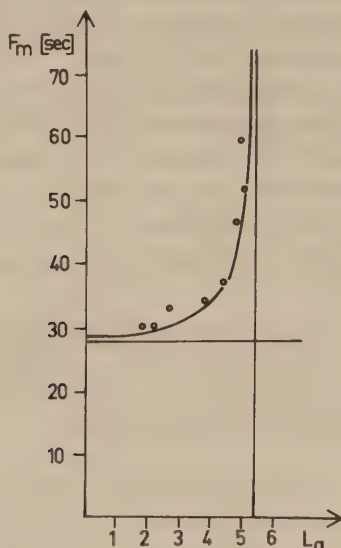


Abb. 7 Abhängigkeit des Quotienten L_a von der maximalen Funktionszeit F_m . Beachte, daß mit zunehmenden F_m -Werten L_a äußerst schnell bis zu einem Sättigungswert anwächst, der für die vorliegenden Versuche bei $L_a = 5,4$ liegt.

o = Einzelwerte von 8 Abklemmversuchen an 8 Kaninchen
 — Mittelwertskurve entsprechend Gleichung (5)

Der Parameter $g_1 = 2R$ stellt die niedrigste Fm-Zeit dar, die bei der gewählten Narkosetiefe und der festgelegten Abklemmstelle der Kaninchen zu erwarten war. Der Wert $d_1 = 5,4$ kann als Maß für den höchstmöglichen relativen Leistungsaufwand La , den das vorliegende Versuchsgut aufwies, angesehen werden. Es zeigt sich, daß Tiere mit kurzer maximaler Funktionszeit auch gleichzeitig einen niedrigen relativen Leistungsaufwand La aufweisen. Für Tiere mit großen Fm-Werten sind hohe Quotienten zu erwarten.

c) Die zeitliche Abhängigkeit der Schwundzeit S von der Abklemmdauer A

Bei der Bestimmung der Schwundzeiten in längerdauernden Ischaemieversuchen bestehen gewisse methodische Schwierigkeiten. Aus früheren Versuchen von B l a s i u s 1957 ist bekannt, daß bei längeren Ischaemiezeiten die Wiederkehr des Reflexes mit äußerst kleinen Ausschlägen erfolgte und deshalb aus methodischen Gründen die Schwundzeit S immer etwas zu groß bestimmt wurde. Außerdem ist bei einzelnen Tieren schon von einer Abklemmzeit von 15 Minuten an die irreversible Schädigung einiger Vorderhornzellen des Rückenmarkes beschrieben worden K r o g h 1950.

Bei den vorliegenden langfristigen Ischaemieversuchen, bei denen noch eine Erholung der Ganglienzellen stattfand, konnte folgende funktionale Beziehung, die in der Abb.8 wiedergegeben ist, festgestellt werden.

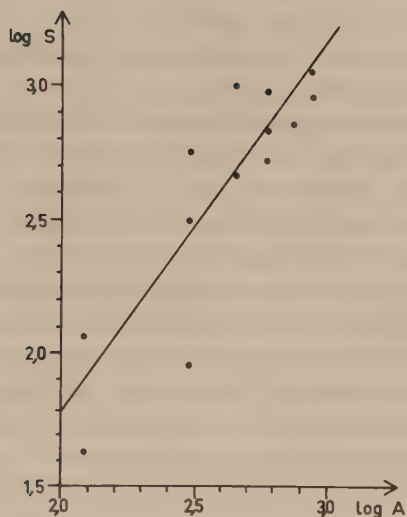


Abb. 8 Abhängigkeit des Logarithmus der Schwundzeit S von dem der Abklemmdauer A.

o = Einzelwerte von 13 Abklemmversuchen an 13 Tieren
 Narkosetiefe: 0,75g Urethan /kg Körpergewicht
 — Mittelwertskurve aller Werte gemäß Gleichung (6)

Es stellt sich unsere Beziehung zwischen S und A als eine Exponentialfunktion dar, die abgeleitet in logarithmierter Form durch folgende Gleichung zu beschreiben ist:

$$\log S = k_1 \cdot \log A + \log S_0 \quad (6)$$

Die Parameter haben hier die Werte $k_1 = 1,341$ und $\log S_0 = -0,899$, sie wurden nach der Methode der kleinsten Quadrate für obige Regressionsgerade berechnet (M i t t e n e c k e r 1964). Diese Werte erweisen sich für den berechneten Korrelationskoeffizienten $r = 0,862$ mit $< 0,01$ als signifikant, weniger als 1% Irrtumswahrscheinlichkeit.

d) Die Beziehung des Erholungsaufwandes der Ganglienzellen
 E_a zur Abklemmdauer A

In früheren Untersuchungen hatte B l a s i u s 1957 beobachtet, daß nach langfristiger ischaemischer Einwirkung auf das Lumbalmark des Kaninchens die Reflexwiederkehr auch im Hinblick auf die Reflexamplitude nur sehr zögernd und allmählich einsetzte. Daher stellte sich für die weitere Analyse der Erholungsvorgänge die Frage, ob zwischen dem allmählichen Anwachsen der Reflexamplituden nach Wiederkehr des Reflexes und der gesamten Ischaemiedauer eine funktionale Beziehung bestehe.

Bei der Registrierung der wiederkehrenden Reflexe nach unterschiedlich langer Abklemmung stellte sich heraus, daß neben der oben erwähnten Verzögerung der Reflexwiederkehr bei längeren Schwundzeiten auch eine, mit zunehmender Ischaemiedauer, immer progressiver werdende Verzögerung des Anwachsens der Reflexamplituden verknüpft war.

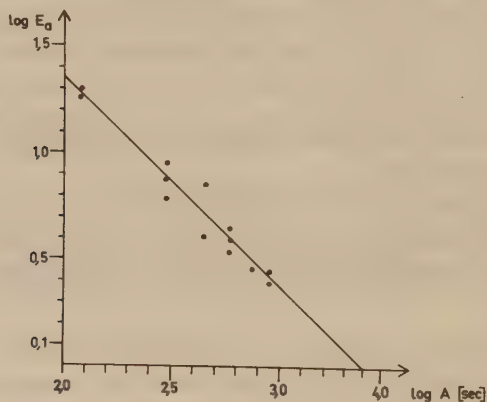


Abb.9 Abhängigkeit des Logarithmus des Erholungsaufwandes der Ganglienzellen E_a von dem der Abklemmdauer A

- o = Einzelwerte von 13 Abklemmversuchen an 13 Tieren
- Narkosetiefe: 0,75g Urethan/kg Körpergewicht
- Mittelwertskurve aller Werte entsprechend Gleichung (7)

Zwischen der Größe der Abklemmzeit A und derjenigen des Erholungsaufwandes E_a (siehe Abb.9) läßt sich folgende funktionale Beziehung approximieren:

$$\log E_a = k_2 \cdot \log A + \log E_{a_0} \quad (7)$$

Die Parameter wurden bei unserem Versuchsgut für die Bedingung der konstanten Abklemmstelle oberhalb des Tripus *Halleri* mit $k_2 = -0,973$ und $\log E_{a_0} = 3,299$ nach oben genannter Methode errechnet. Die Werte der vorstehenden Regressionsgerade erweisen sich für den berechneten Korrelationskoeffizienten $r = -0,973$ mit $<0,01$ Irrtumswahrscheinlichkeit als signifikant. Es ergibt sich also, daß der Erholungsaufwand der Ganglienzellen E_a in einer logarithmischen Funktion von der Ischaemiedauer A abhängt, und zwar in einem Zeitraum, der der Strukturerhaltungszeit entspricht.

Über den vermutlichen Ort, an dem die Schädigung der Ganglienzellen zuerst auftritt, und über die in diesem Bereich stattfindenden strukturellen Veränderungen wird im folgenden Kapitel ausführlich berichtet.

II. Morphologische Änderungen der Mitochondrien der motorischen Vorderhornzellen unter abgestufter Ischaemie

Bei unseren Versuchen wurden die Sc/Vm-Quotienten an den Ultrastrukturen der Mitochondrien der motorischen Vorderhornzellen des Kaninchenlumbalmarkes morphometrisch bestimmt. Es erschien besonders vielversprechend, das Verhalten der Sc/Vm-Quotienten der Mitochondrien nach Ischaemie zu untersuchen, da "für das Ausmaß der oxydativen Phosphorylierung die Fläche Sc der Cristae beziehungsweise Tubuli mitochondriales entscheidend zu sein scheint" (S i t t e).

Es war zu erwarten, daß sich ein O_2 -Mangel, durch

Ischaemie hervorgerufen, besonders auf diejenigen Strukturen der Zellen auswirkt, die primär der Energiegewinnung dienen. Hier ist an erster Stelle das Mitochondrium zu nennen, das "als Energiebereiter für die Nervenzellen von primärer Bedeutung ist" (B a r g m a n n 1962).

Nach den Untersuchungen von M e r k e r 1969 treffen die Veränderungen unter abgestufter Ischaemie selbst innerhalb einer Zelle nicht alle Mitochondrien gleichmäßig. Peripher gelegene Mitochondrien weisen stärkere Veränderungen auf als solche, die zentral, d.h. in der Nähe des Nucleus, liegen. Schon nach einer Ischaemiedauer von fünf Minuten zeigen die Mitochondrien, besonders in der Peripherie der Zelle, blasige Aufquellungen der Cristae mitochondriales. Die Matrix zeigt hierbei noch keine Veränderung.

Bei einer Ischaemiezeit von 10 Minuten wurden in den Cristae blasige Quellungen sowie kolbenartige Auftreibungen gefunden. Die Matrix ist nun teilweise aufgehellte, teilweise sieht man jedoch wolkige Verdichtungen.

Nach einer Ischaemiezeit von 15 Minuten nimmt die Aufhellung der Matrix weiter zu. Die Cristae zeigen jetzt Abschnürungen, wobei das Volumen der Mitochondrien weiter vermehrt wird.

Nach einer Ischaemiedauer von 20 Minuten nimmt die Zahl der Cristae stark ab. Die Matrix ist heller und gleichmäßiger strukturiert als in den Versuchen mit ischaemischer Schädigung von kürzerer Dauer. Wolkige Verdichtungen finden sich nur noch an wenigen Stellen. Das Volumen hat weiter zugenommen und die Mitochondrien besitzen nun eine ungleichmäßige ovale Gestalt. Die inneren und äußeren Membranen der Mitochondrien rücken aneinander, verlieren ihre normale, gegenseitige, gleichmäßige Distanz und sind elektronenoptisch oft nicht mehr voneinander zu trennen.

Nach einer Ischaemiezeit von 30 Minuten finden sich nur noch äußerst geringe Reste der inneren Mitochondrienmembran. Die Cristae zerfallen in kleine Bruchstücke, die meist am Rande der äußeren Membran liegen. Die Organellen sind zu fast kreisrunden Formen aufgebläht und erscheinen wie große flüssigkeitsgefüllte Blasen, (siehe Abb.10).

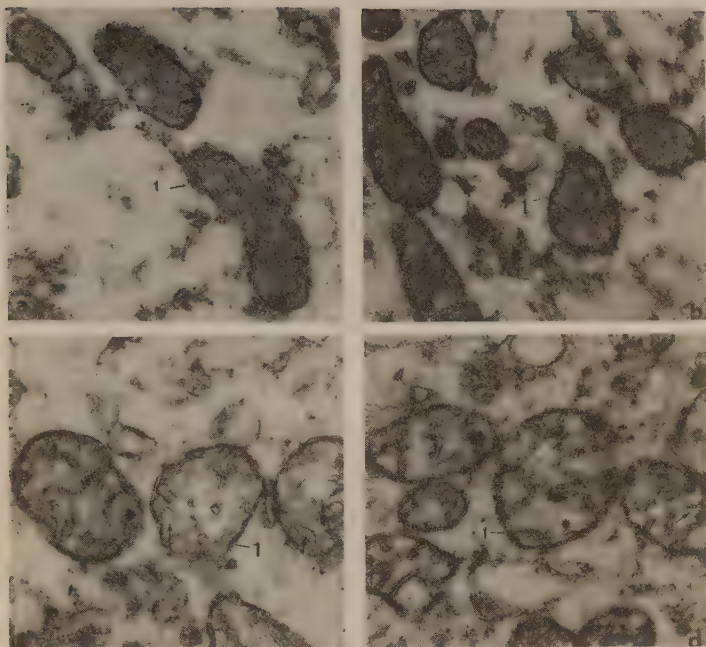


Abb. 10 a - d. Strukturänderungen der Mitochondrien motorischer Vorderhornzellen unter abgestufter Ischaemie innerhalb des Bereiches der Strukturhaltung.

Methodik s.S. 11. Vergr. 56000 fach.

a: In den Mitochondrien unbeeinflusster motorischer Vorderhornzellen (1) zeichnen sich die parallel ausgerichteten Cristae (†) deutlich ab.

b: Nach einer Ischaemie von 5 Min sind an den Cristae der Mitochondrien (1) blasige Auftreibungen (*) zu erkennen.

c: Nach einer Ischaemie von 10 Min hat das Volumen der Mitochondrien (1) zugenommen. Kennzeichnend sind die keulenartigen Auftreibungen (†) der reduzierten Cristae.

Die Matrix der Mitochondrien zeigt wolkeartige Verdichtungen (•).
d: Nach einer Ischaemiedauer von 15 Min zeigen sich an den Cristae blasige Abschnürungen (†). Die Mitochondrienmatrix (•) ist aufgeheilt.

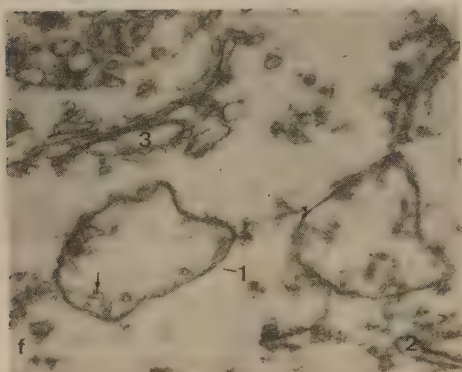
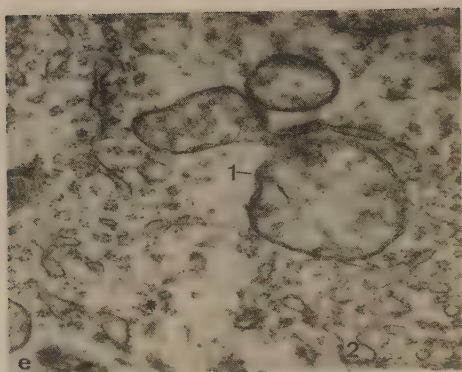


Abb. 10 e - f. Strukturänderungen der Mitochondrien motorischer Vorderhornzellen nach einer über die Strukturhaltungszeit hinaus reichenden Ischaemiedauer. Methodik s.S.11. Vergr. 56000 fach.

e: Nach einer Ischaemiedauer von 20 Min sind die Cristae (†) der Mitochondrien (1) deutlich reduziert. Das Mitochondrienvolumen hat zugenommen. (2) Zisternen des endoplasmatischen Retikulum. • Ribosomen.

f: Nach einer Ischaemie von 30 Min sind die Mitochondrien (1) unter Veränderung ihrer Form stark aufgequollen. Von den Cristae (†) sind nur noch Fragmente zu erkennen. 2 Endoplasmatisches Retikulum. 3 Golgi-Komplex.

Bestimmt man morphometrisch von jeweils hundert Mitochondrien der einzelnen Ischaemiestufen den Quotienten Sc/V_m nach dem besprochenen Punktzählverfahren von S i t t e, so ergibt sich eine eindeutige Abnahme dieses Quotienten mit der Steigerung der Ischaemiezeiten im Bereich von fünf bis dreißig Minuten. Die Logarithmen des Sc/V_m -Quotienten und der Ischaemiedauer A verhalten sich reziprok, wie Abb.11 deutlich macht.

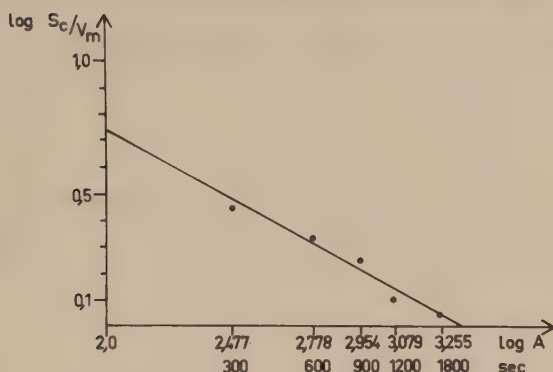


Abb.11 Abhängigkeit des Logarithmus des Quotienten Sc/V_m von dem der Abklemmdauer A

- o = Mittelwerte, bestimmt an hundert Mitochondrien der Vorderhornanglienzellen des Kaninchenrückemarks nach abgestufter Ischaemie bei 11 Tieren (Tab. III)
- Narkosetiefe: 0,75g Urethan/kg Körpergewicht
- Mittelwertskurve aller Werte entsprechend Gleichung (8)

Die Beziehung des Sc/V_m -Quotienten zur Ischaemiedauer A läßt sich in einer logarithmischen Funktion entsprechend folgender Formel darstellen:

$$\log Sc/V_m = k_3 \cdot \log A + \log Sc/V_{m_0} \quad (8)$$

Die Parameter obiger Formel wurden nach der Methode der kleinsten Quadrate approximiert. Dabei fanden wir $\log Sc/Vm_0 = 1,842$; $k_3 = -0,550$. Diese Werte erweisen sich für den errechneten Korrelationskoeffizienten $r = -0,979$ mit $< 0,01$ als signifikant.

Die Zunahme der Ischaemiedauer A bewirkt einen progressiven Schwund des Quotienten Sc/Vm bis zu einer Grenze hin, wo sich das Ende der Strukturerhaltungszeit durch Auflösung der Innenstrukturen der Mitochondrien ankündigt.

Über die Bedeutung dieser Befunde für die Funktion der Mitochondrien soll in der Diskussion ausführlich gesprochen werden.

Physiologische Versuchsergebnisse Tab. I

Versuch VT	Gewicht kg	Alter Monate	Fm (sec)	S _{FM} (sec)	A (sec)	S (sec)	Ea
16	3,40	7	45,3	13,5	120	115	19,68
24	3,10	9	28,8	11,5	120	42	18,63
16	3,40	7	48,5	11,0	300	315	9,00
22	3,50	9	42,0	11,5	300	90	6,12
24	3,10	9	33,0	11,5	300	487	7,70
27	2,80	9	59,7	14,3	450	471	4,15
18	2,90	7	30,0	13,0	450	1020	7,22
34	4,20	10	52,5	15,0	600	690	4,50
19	2,90	8	30,0	12,5	600	960	3,53
22	3,50	9	37,0	12,0	600	525	3,99
20	3,50	9	41,3	14,2	750	720	2,94
33	3,80	9	46,8	15,0	900	915	2,51
23	3,40	9	34,3	12,0	900	1140	2,82

Physiologische Ergebnisse Tab.II

Fm	:	33,0	59,7	30,0	52,5	30,0	37,0	46,8	34,3
Ifm	:	9,50	28,8	19,6	31,0	2,70	15,3	44,5	13,6
h max	:	3,50	5,90	9,00	6,10	1,40	3,50	9,00	3,60
La	:	2,70	4,90	2,20	5,10	1,90	4,40	4,90	3,80
VT	:	24	27	18	34	19	22	33	23

Ultrastrukturelle Versuchsergebnisse Tab.III

A (sec):	300	600	900	1200	1800
Sc/Vm	: 2,87	2,19	1,81	1,28	1,12

D. Besprechung der Ergebnisse

I. Besprechung der physiologischen Ergebnisse

Eine Unterbrechung der kontinuierlichen Blutzufuhr zum Rückenmark, führt, wie in der Einleitung bereits erwähnt wurde, zu Änderungen der physiologischen Funktionen der motorischen Vorderhornzellen (B l a s i u s 1950), welche am Verhalten des Quadriceps-Eigenreflexes meßbar gemacht werden können, und welche mit quantitativ faßbaren, strukturellen Änderungen der motorischen Vorderhornzellen einhergehen (B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957, 1958, K r o g h 1950).

B l a s i u s 1950, 1957 konnte zeigen, daß bei kurzfristiger Ischaemie des Kaninchenrückenmarkes gesetzmäßige Beziehungen zwischen den Größen einerseits der maximalen Funktionszeit F_m und der Schwundzeit S_{F_m} , sowie andererseits dem Energiequotienten q und der Abklemmdauer A gefunden werden können.

Wie in Abschnitt C.I. ausgeführt wurde, gilt die Formel von B l a s i u s $S = e^q \cdot A + c$, d.h. die Schwundzeit der Ganglienzellen nach Ischaemie wächst exponentiell mit der Ischaemiedauer A . Dabei ist diese Funktion ferner von dem Energiequotienten q abhängig, der nach B l a s i u s den reziproken Wert des Energiespeichers der Ganglienzellen (einschließlich der im Kapillarbett der Ganglienzellen verwertbaren Energie des Blutes) darstellt, den er E_0 nannte; diese Beziehung läßt sich in folgender Gleichung ausdrücken:

$$q = \frac{1}{E_0} \quad (9)$$

Weiterhin steht q nach Art einer höheren Hyperbel mit der maximalen Funktionszeit F_m in Korrelation:

$$F_m = p \cdot q^{-n} + b \quad (2)$$

Mithin ist auch die Zeit F_m ein Maß für die Ischaemieverträglichkeit der Ganglienzelle. In den vorliegenden Untersuchungen wurden die q -Werte nach der von B l a s i u s 1957 angegebenen Formel (3) berechnet und mit den F_m -Werten in Beziehung gesetzt (siehe Abb.5).

Hierbei fanden wir, wie früher B l a s i u s 1950, B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957, daß die Zeit F_m , in der die Ganglienzelle unter Ischaemie noch effektive Arbeit (Aussendung von beantworteten Impulsen) zu leisten imstande ist, in exponentieller Beziehung zu dem verfügbaren Energiespeicher der Zelle E_0 steht.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden für einen Zeitbereich ausgeführt, in welchem die Ischaemiedauer der maximalen Funktionszeit F_m entsprach, und der also im Gegensatz zu den dann folgenden Ischaemieversuchen als kurzfristig bezeichnet werden kann.

Bemerkenswert ist, daß der Energiequotient q nach B l a s i u s 1957 auch für langfristige Abklemmungen ($A > F_m$) berechnet werden kann, und zwar nach einer der Gleichung (2) analogen Beziehung, in der F_m durch A ersetzt wird:

$$A = p \cdot q^{-n} + b \quad (4)$$

B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 fanden die Gleichung gültig für Werte von A bis zu 1600 sec .

Bei unseren Versuchen über den Einfluß der Ischaemie auf das Kaninchenrückenmark wurden nur Abklemmzeiten bis zu 900 sec angewandt, da wir noch im Bereich der Strukturerhaltungszeit bleiben wollten (B l a s i u s 1957, K r o g h 1950). Denn schon nach einer Abklemmzeit von 15 Minuten fand K r o g h 1950 einzelne Nekrosen der Motoneuren. Jedoch folgten auch bei unseren Versuchen die q -Werte den A -Werten im längerfristigen Ischaemiebereich entsprechend der von B l a s i u s 1957 gefundenen Beziehung.

Die bei unseren Versuchen gefundenen Parameter stimmen mit den früher von B l a s i u s gefundenen Werten für eine Abklemmstelle oberhalb des Tripus *Halleri* überein, wobei wir jedoch für b einen etwas höheren Wert fanden (im

langfristigen Ischaemiebereich $b = 104,0$ gegen $b = 76,0$ bei B l a s i u s +). Vermutlich beruht diese Parameterveränderung auf der stärkeren Narkosetiefe bei den vorliegenden Versuchen.

Aus unseren Ergebnissen läßt sich ableiten, daß zwischen unserem Versuchsgut und dem von B l a s i u s hinsichtlich der physiologischen Bedingungen keine wesentlichen Unterschiede bestanden.

Wie in Abschnitt C.I.b zuvor beschrieben, fanden wir, daß zwischen der maximalen Funktionszeit F_m der Versuchstiere und dem jeweiligen relativen Leistungsaufwand La eine hyperbelmäßige Beziehung besteht.

Es zeigte sich, daß Tiere mit besonders langer F_m -Zeit auch einen sehr hohen Leistungsaufwand La der Ganglienzellen besaßen.

Die Gründe, die bewirken, daß Tiere mit langer F_m -Zeit eine besonders große Ganglienleistung (erkennbar am La -Quotienten) erbringen, können verschiedener Natur sein. Einerseits spielt das Energiereservoir E_0 der Ganglienzelle sicherlich eine große Rolle, andererseits könnte eine unterschiedliche Kapillarisation der Grund für diese Beziehung (5) sein, wobei man von der Vorstellung ausgehen darf, daß ein Blutbett, welches durch eine vermehrte Kapillarisation gekennzeichnet ist, auch größere Sauerstoff- und Nährstoffreserven zur Verfügung stellt (O p i t z und S c h n e i d e r 1950).

+) Wie schon in der Methodik erwähnt, wählten wir diese relativ hohe Abklemmstelle, um in dem QFR-Zentrum eine sichere Ischaemie zu setzen. da bei vorher vorgenommenen Kontrollversuchen mit Abklemmung unterhalb des Abganges der Nierenarterien bei einzelnen Tieren (mit ausgeprägter Kollateralversorgung) trotz sicherem Verschuß der Aorta abdominalis vielfach längere F_m -Zeiten gemessen wurden gegenüber den Tieren mit höher gewählter Abklemmstelle.

Ferner geht in die unterschiedliche Leistungsbreite der Versuchstiere auch die von B l a s i u s 1957 gefundene Beziehung

$$F_m = -12,37 + 206,3 \cdot \log \frac{1}{1 - \frac{Hb}{25,0}} \quad (10)$$

ein, die besagt, daß die verschiedene Leistungsfähigkeit der Ganglienzellen der einzelnen Tiere von dem Hämoglobin-Gehalt ihres Blutes abhängt. Ein großer Hb-Gehalt bedeutet auch eine größere E_o -Reserve.

Weiterhin könnte für diese Verhältnisse auch der unterschiedliche Glykogen-Gehalt G der Ganglienzellen verantwortlich gemacht werden, der nach Art einer höheren Hyperbel mit der Größe der maximalen Funktionszeit F_m korreliert:

$$G = - \frac{313,5}{F_m^2} + 29 \quad (11)$$

Diese Beziehung wurde von B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 nach einer temporären Ischaemie-einwirkung von 15 Minuten und einer konstanten Manifestationszeit von vier Tagen gefunden.

Es ist anzunehmen, daß der unterschiedliche Glykogen-Gehalt der Ganglienzellen bei kurzfristiger Ischaemie, wie in diesem Abschnitt unserer Untersuchungen, wahrscheinlich eine noch viel wichtigere Rolle als Energiereservoir spielt, da Glykogen die Ausgangssubstanz für die anaerobe Glykolyse darstellt.

Bei der rechnerischen Entwicklung der Beziehung zwischen der Schwundzeit S und der Ischaemiedauer A fanden wir in dem Zeitraum der Strukturerhaltungszeit eine Funktion entsprechend Gleichung (6):

$$\log S = k_1 \cdot \log A + \log S_o \quad (6)$$

Für den Vergleich unserer ultramorphologischen

Meßwerte mit den Meßwerten, die aus den physiologischen Leistungen der Motoneuren nach Überschreiten der F_m -Zeit, aber noch im Bereich der Strukturerhaltungszeit, gewonnen werden konnten, bot unsere Gleichung (6) die günstigste Anpassung. Dies ist damit zu begründen, daß die Skala der morphologischen Strukturänderungen, die später noch zu besprechen sind, zwar als Ergebnisse der Ischaemie gewertet werden müssen, jedoch nur eine Teilfolge des Energieausfalles infolge O_2 -Mangels darstellen. Denn Anoxie oder Ischaemie halten nicht nur den Umsatz der Zelle auf, sondern zerstören diese auch, wie man in Modifikation eines Resumeés von B a r c r o f t sagen könnte.

Somit ist die Hauptaussage unserer Gleichung (6) diese, daß mit zunehmender Ischaemiedauer A die Schwundzeit S bis zu dem Wert anwächst, der die durch O_2 -Mangel hervorgerufene Nekrose der Ganglienzellen charakterisiert. Mit dieser Feststellung ist der Ansatz zu einer Regression der physiologischen Meßwerte mit den später zu beschreibenden morphologischen Meßwerten der Ganglienzellen gegeben.

Die Tatsache, daß mit zunehmender Ischaemiedauer A nicht nur eine Verlängerung der Schwundzeit S , sondern auch eine Verkleinerung der jeweils wiederkehrenden Reflexausschläge erfolgt, läßt sich rechnerisch in der von uns gefundenen Beziehung

$$\log E_a = k_2 \cdot \log A + \log E_{a_0} \quad (7)$$

darstellen. Wie in den vorher besprochenen Abhängigkeiten von F_m und I_a im Bereich kurzfristiger Abklemmversuche, bei denen eine große F_m -Zeit einem erhöhten Leistungsaufwand I_a entspricht, so läßt sich auch im Bereich längerfristiger Ischaemieversuche die Abhängigkeit der Größe E_a von der Abklemmdauer A umgekehrt als reziproke Beziehung darstellen, da hier nämlich lange Ischaemiezeiten nur einen kleinen Erholungsaufwand der Ganglienzellen ermöglichen. Auch die E_a -Werte nehmen bis zu einer Grenze ab, die den Eintritt der Ganglienzellnekrose definiert.

Durch rechnerische Verknüpfung der Gleichungen (6) und (7), welche die Beziehungen von S und Ea zu A darstellen, gelingt es nun, eine mathematische Funktion zwischen dem Logarithmus der Schwundzeit S und dem des Erholungsaufwandes Ea der Ganglienzellen des Vorderhorns im Kaninchenrückenmark zu entwickeln. Die Formel dieser Funktion lautet:

$$\log Ea = -0,772 \cdot \log S + 2,641 \quad (12)$$

Den Verlauf dieser Funktion verdeutlicht die Abb.12.

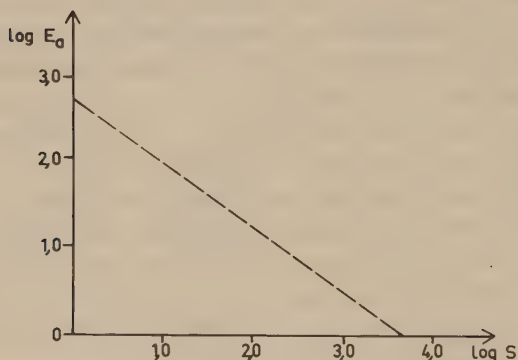


Abb. 12 Abhängigkeit des Logarithmus der Schwundzeit S von von dem des Erholungsaufwandes Ea der Vorderhorn-ganglienzellen nach abgestufter Ischaemie.

---- Funktion entsprechend Gleichung (12), gewonnen durch Kombination aus Gleichung (6) und (7)

Damit ist es möglich, für den Erholungszeitraum der Ganglienzelle, innerhalb der Strukturerhaltszeit, den jeweiligen Erholungsaufwand E_a aus der Schwundzeit S im voraus zu berechnen. Der Verlauf der Funktion läßt erkennen, daß bei langen Schwundzeiten nur noch ein minimaler Erholungsaufwand zu erwarten ist.

Über den möglichen Vorgang, der einer solchen irreversiblen Störung zugrunde liegt, soll im Folgenden bei der Erörterung der ultrastrukturellen Befunde gesprochen werden.

II. Besprechung der morphologischen Ergebnisse

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß für die lichtmikroskopische Diagnose von reversiblen ischaemischen Wirkungen auf die Vorderhornganglienzellen (5 Minuten Ischaemie) eine Manifestationszeit von 30 Stunden nötig ist. Es wurden dabei eine leichte Schädigung der Trigroidsubstanz und eine geringe Kernschwellung gefunden. Nach einer Ischaemiedauer von 15 - 20 Minuten (Durchschnittswert = 17 Minuten) traten irreversible Ganglienzellveränderungen (Nekrosen) auf (K r o g h 1950, B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957, 1958).

Bei unseren Ischaemieversuchen setzten wir eine durchschnittliche Manifestationszeit von nur acht Minuten, die wegen der Methodik der Vitalfixierung für die ultrastrukturellen Untersuchungen notwendig war. Dabei fanden wir mittels elektronenoptischer Diagnostik erste und typisch progrediente Veränderungen besonders an den Mitochondrien der Motoneuren des QER-Zentrum.

Wie in Abschnitt C.II beschrieben, sind mit Zunahme der Ischaemiedauer A am Mitochondrium eine zunehmende Reduktion der Zahl der Cristae mitochondriales, einhergehend mit progredientem Formwandel der Cristae mitochondriales durch Quellung und Vakuolisierung, und eine Steigerung

des Mitochondriumvolumen: zu finden. Eine wichtige Größe für die Beschreibung dieser Veränderungen stellt der Sc/Vm-Quotient dar, der für die Mitochondrien der einzelnen Ischaemiestufen nach zuvor beschriebener Methode (B II) bestimmt wurde. Dabei fanden wir für die Beziehung zwischen dem Sc/Vm-Quotienten und der Ischaemiedauer A eine Funktion, die den Beziehungen zwischen S bzw. Ea und A analog ist:

$$\log \text{Sc/Vm} = k_3 \cdot \log A + \log \text{Sc/Vm}_0 \quad (8)$$

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß die Werte des Sc/Vm-Quotienten bei verschiedenen Mitochondrientypen deutliche Unterschiede zeigen und bei besonders leistungsfähigen Mitochondrien, z.B. im Flugmuskel von Insekten, die höchsten Werte erreichen (S i t t e).

Aus der Regression des Sc/Vm-Quotienten zur Ischaemiedauer A entsprechend Formel (8) ist zu schließen, daß unter Ischaemie die Stoffwechselleistung der Mitochondrien bis zu einem Wert hin abnimmt, der letztlich den Zusammenbruch der Gangliensellstrukturen auslöst.

Wie schon erwähnt, nimmt das Mitochondrium in der Energiegewinnung der Zelle eine Schlüsselstellung ein (L e h n i n g e r 1970, B a r g m a n n 1962).

Ein bedeutender Beweis hierfür ist darin zu sehen, daß sich nach den Untersuchungen von G r e e n 1956 in der löslichen Matrix der Mitochondrien die Enzyme des Citronensäure-zyklus, z.B. die Succino-dehydrogenase, finden. Dieser Citronensäurezyklus, auch "Krebszyklus" genannt, ist als Drehscheibe des Intermediärstoffwechsels aufzufassen, in den die "aktivierte Essigsäure" als gemeinsames Zwischenglied des Saccharid-, Fettsäuren- und Aminosäurenstoffwechsels in Hinblick auf den oxydativen Endabbau eingeht (K r e b s). Auch sind in den Mitochondrien die am Fettsäurenabbau über die β -Oxydation beteiligten Enzyme enthalten (N e t t e r).

Weiterhin findet sich das System der Atmungskette mit den gesamten Atmungsfermenten (Cytochromoxydasen) in der inneren Mitochondrienmembran, deren Ausstülpungen die

Cristae mitochondriales darstellen. Es wird als sehr wahrscheinlich angenommen, daß die Enzyme der Atmungskette in der Reihe, in der sie miteinander reagieren, hintereinander auf der inneren Mitochondrienmembran in sogenannten "Atmungsgruppen" angeordnet sind (Lehninger 1970).

Bei jedem Umlauf im Krebszyklus werden vier verschiedene Dehydrierungsschritte vorgenommen, wobei dreimal Nikotinamid-adenin-dinucleotid und einmal die aktive Gruppe der Succinodehydrogenase, die zur Gruppe der Flavoproteine gehört, als Elektronenakzeptoren wirken, die jetzt ihrerseits diese Elektronen auf die Atmungskette übertragen. In der Atmungskette findet schließlich die Endoxydation durch Übertragung der Elektronen auf den molekularen Sauerstoff und der gleichzeitige Energiehauptgewinn der Zelle im Rahmen der oxydativen Phosphorylierung statt. Dabei wird die Energie durch Synthese von Adenosindiphosphat mit Phosphat zu ATP für die Zelle konserviert.

Die energetische Bewertung dieser Endoxydation ergibt, daß gegenüber einer anaeroben Glykolyse der Ganglienzelle unter Ischaemiebedingungen, die nur 7% der Glucoseenergie verwertet (Glucose - 2 Lactat $\sim$ -52 kcal Standardänderung der freien Energie), der Vorgang der Atmungskettenphosphorylierung im Mitochondrium die Glukoseenergie (Standardänderung der freien Energie hierbei = -686 kcal) zu einem weitaus höheren Anteil ausnutzt, nämlich bei Übertragung von 12 Elektronenpaaren bei der vollständigen Oxydation von Glucose zu H_2O und CO_2 : $12 \times -52 \text{ kcal} = -624 \text{ kcal/Mol Glucose}$.

Jedoch konnte man zeigen, daß anaerob tätige Zellen bis zu 20 mal mehr Glucose verbrauchen als aerob tätige, um die gleiche Arbeit zu leisten (Lehninger 1970).

Die durch die Abklemmung der Aorta abdominalis gesetzte Ischaemie wird sich auf die energieliefernden Prozesse in den Mitochondrien mit sich gegenseitig überschneidenden Vorgängen auswirken.

Zunächst tritt eine Erschöpfung der O_2 -Reserven, die einerseits in den Zellen physikalisch gelöst und andererseits im Kapillarblut an Hämoglobin gebunden sind,

in einem Zeitraum von 5 - 8 sec ein(C r a i g i e und S j ö s t r a n d). In der sich nun anschließenden Phase wird die Ganglienzelle ihren Energiebedarf durch die Glykolyse, d.h. den anaeroben Abbau der Glucose zu decken versuchen. Es ist zu bemerken, daß die Enzyme der Glykolyse nicht an bestimmte Zellstrukturen gebunden zu sein scheinen(L e h n i n g e r). T h o r n fand, daß bereits 5 - 8sec nach Ischaemiebeginn die Milchsäureproduktion durch die Glykolyse eine derartige Steigerung erfährt, daß die Ganglienzellen während 20 - 30 sec anaerob mehr Energie freisetzen, als sie zur gleichen Zeit durch die Atmungskettenphosphorylierung zu erzeugen vermöchten. Wie zuvor ausgeführt, wird durch die Glykolyse nur ein sehr kleiner Teil der Glucoseenergie ausgenutzt, somit tritt eine baldige Erschöpfung der Substratreserven ein; außerdem ist die Einstromungsgeschwindigkeit der Glucose an den Ganglienzellen besonders gering, wie aus Untersuchungen von O p i t z und L o r e n z e n an den Ganglienzellen des Gehirns wahrscheinlich gemacht wurde.

Jedoch wird auch das ganglienzelleigene Glykogen unter Ischaemiebedingungen mobilisiert und verbraucht, wie B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 zeigen konnten.

Eine weitere negative Rolle bei der Ischaemiewirkung auf die Zelle spielt schließlich die Hemmung der Glykolyse durch das gebildete, jedoch nicht weiter über den Krebszyklus und die Atmungskette oxydierbare Lactat und die damit verbundene ph-Änderung zur Acidose hin(O p i t z und L o r e n z e n). Für den Erholungsvorgang könnte sich eine durch die Überladung des Gewebes mit Lactat anzunehmende Denaturierung der Atmungsfermente weiterhin hemmend auswirken. Einen unmittelbaren Ausdruck für das nun einsetzende Energiedefizit der Ganglienzelle stellt die Abnahme der energiereichen Phosphate dar.

Im Hirngewebe ist bereits nach 30 sec Ischaemie eine Abnahme des Phosphokreatingehaltes auf 10% des Ausgangswertes festzustellen(K e r r 1935; nach zweiminütiger

Ischaemieeinwirkung ist schließlich die energiereiche Verbindung ATP bereits größtenteils in Adenosindiphosphat und Phosphat zerfallen(K e r r 1942).

Es ist anzunehmen, daß die Mitochondrien genau wie die ganze Ganglienzelle aktive, ATP verbrauchende Ionenpumpen besitzen, die ein konstantes "Milieu interne" zu gewährleisten imstande sind(L e h n i n g e r 1970.).Die Hemmung der Schwellung von Mitochondrien durch Zusatz von ATP kann als ein Indiz hierfür gewertet werden(L e h n i n g e r 1962). Ferner wirkt Succinat neben anderen Stoffen (Ca, Phosphaten, Fumarat, Thyroxin etc.) schwellungsfördernd auf die Mitochondrien(L e h n i n g e r 1962). Da das Succinat von der Succinodehydrogenase im Krebszyklus abgebaut wird, ein Vorgang, der jedoch bei O₂-Mangel nicht möglich ist, dürfte ein Anstieg der Succinatkonzentration in den Mitochondrien auch einen Einfluß auf deren Schwellung haben. Für die weitere Aufklärung dieser Vorgänge wären Konzentrationsbestimmungen von Succinat nach Ischaemie in den Vorderhornganglienzellen von großem Wert.

In diesen Zusammenhang fügt sich gut die von B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1958 gefundene Abnahme der Aktivität der Succinodehydrogenase schon nach einer Ischaemiezeit von fünf Minuten bei einer Manifestationszeit von 30 Stunden ein. Jedoch waren bei unseren kurzfristigen Manifestationszeiten die ultrastrukturellen Veränderungen schon früher erkennbar als die oben erwähnten histochemisch gesicherten Änderungen der Enzymaktivitäten. Wahrscheinlich nimmt bei fortschreitender Ischaemie die Succinatkonzentration in der Zelle zu, weil die Enzymaktivität der Succinodehydrogenase abnimmt.

Die Bestimmung des Sc/Vm-Quotienten stellt somit eine empfindliche Methode dar, um alle die genannten Stoffwechselvorgänge in den Mitochondrien, welche für die Ischaemie eine Rolle spielen, in ihrer strukturellen Wirksamkeit zu erfassen.

Alle genannten biochemischen und strukturellen Änderungen in den Mitochondrien machen es wahrscheinlich, daß

der Anstoß für die beschriebenen Schwellungen der Mitochondrien und das Aufbrechen der Cristaestrukturen zuerst infolge einer Blockade der Atmungskettenphosphorylierung durch O_2 - und Substratmangel zustande kommt. Mit dieser Blockade sind das anschließende Versagen einer vermutlich ATP-abhängigen Ionenpumpe trotz Energieerzeugung durch anaerobe Glykolyse und die im Folgenden einsetzende passiv-osmotische Veränderung des Zellmilieus gekoppelt.

Die Befunde von H a g e r et al., die durch Kaliumzyanidvergiftung (Blockierung der Atmungskette und nachfolgender ATP-Mangel) am Gehirngewebe von Hamstern vergleichbare ultrastrukturelle Schäden an den Mitochondrien setzen konnten, stützen in gewisser Weise diese Überlegungen. Dazu im Einklang stehen auch die Befunde von L e o n, et al., die bei Hypoxie der Rattenleber eine sehr schnelle, lineare Abnahme der Phosphorylierungsfähigkeit fanden. M ö l b e r t und G u e r r i t o r e 1957 entdeckten nach Hypoxie an den Mitochondrien der Leberzelle Aufquellungen der Mitochondrien und Fragmentierung der Cristae, jedoch keine nennenswerten Änderungen im Enzymgehalt. Die von H a g e r et al. gefundenen analogen ultrastrukturellen Veränderungen der Mitochondrien nach Hypoxie am Hamsterhirn (geschwollene Mitochondrien und frakturierte Cristae mitochondriales) werden von diesen Autoren als durch Vermehrung der Konzentration osmotisch aktiver Partikel bedingt geschildert. Dabei soll nach R o u i l l i e r, der 1960 eine ausführliche Literaturübersicht über physiologische und pathologische Veränderungen der Mitochondrien lieferte, eine "klare Schwellung" der Mitochondrien immer mit Störungen des osmotischen Gleichgewichtes der Zellen verbunden sein. Eine Zunahme osmotisch aktiver Partikel könnte durch eine Lactatvermehrung infolge anaerober Glykolyse (T h o r n), unter Umständen auch auf eine Depolymerisation der Plasmaribonucleotide (H a g e r et al.) zurückzuführen sein. M e r k e r fand nach abgestufter Ischaemie zunehmende Stoffanreicherungen an der Kernmembran, den Membranen

der Mitochondrien und an den Zisternen des endoplasmatischen Retikulum. Wenn man den komplizierten Ablauf der biochemischen Vorgänge während der Ischaemie in der Zelle berücksichtigt, ist jedoch anzunehmen, daß ein Versagen des aktiven Ionentransportes der Mitochondrien, durch ATP-Mangel hervorgerufen, diese Schwellung primär in Gang setzt und sich erst dann eine weitere osmotische Quellung anschließt.

In Anbetracht der unterschiedlich langen Manifestationszeit in den lichtmikroskopischen Untersuchungen am ischaemisierten Rückenmark des Kaninchens (B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957, K r o g h 1950) gegenüber der sehr kurzen Manifestationszeit bei unseren ultrastrukturellen Untersuchungen, erscheint ein Vergleich der Veränderungen der Tigroidsubstanz und des Kernes (Chromatolyse) mit denen der Mitochondrien der Ganglienzellen nicht ohne weiteres möglich. Jedoch darf man annehmen, daß die Änderungen an den energieerzeugenden Systemen der Ganglienzellen nach Ablauf der für die lichtmikroskopischen Untersuchungen notwendigen Manifestationszeit schließlich das Auftreten der Tigrolyse und Chromatolyse bewirken.

Eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 und K r o g h 1950, die den Eintritt der irreversiblen Ganglienzellschädigung der meisten Motoneuren nach einer Ischaemiezeit von 15 - 20 Minuten bei einer Manifestationszeit von 30 Stunden beschreiben, ergibt sich in dem Punkt unserer Funktion (8), bei dem der Leistungsquotient Sc/V_m von 1,28 dem Ischaemiezeitwert von 20 Minuten korreliert ist. Diese Grenze der Strukturerhaltungszeit ist jedoch als ein Durchschnittswert zu betrachten; denn man müßte doch wohl als Grund für das Auftreten der elektrischen Hyperaktivität in den spastischen Muskeln der Hinterextremitäten des Kaninchens nach einer temporären Ischaemie von 22 Minuten das Überleben noch einzelner Motoneuren annehmen (B e c k e r und B l a s i u s 1952, K r o g h 1950).

In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß

G e l f a n und T a r l o v 1959, 1962 und T a r l o v und G e l f a n 1960 nach längerer Ischaemie histologisch eine besondere Schädigung der Interneuren im Rückenmark von Hunden fanden, während die Schädigungen an den Motoneuren nicht so ausgeprägt waren. Allerdings sahen G e l f a n und T a r l o v 1954 bei der Darstellung der Potentiale von der Hinterseite des Hunderückenmarkes bei Ischaemie einen kompletten Block der Motoneuren bei noch bestehenden Entladungen der Interneuren. Die genannten Autoren halten den nach Beendigung längerer Ischaemiezeiten auftretenden Ruhetremor der Hinterextremitäten für abhängig von dem Erhaltungsgrad der Motoneuren und sprechen der Schädigung der Interneuren einen enthemmenden Einfluß auf die Motoneuren zu. Die geringe Widerstandskraft der Interneuren von Hunden und Katzen gegenüber einem O_2 -Mangel wird auch von v a n H a r r e v e l d beschrieben. In unseren Untersuchungen wurde die Erholungsfähigkeit nur der Motoneuren des Rückenmarkes beim Kaninchen studiert; es ist daher nicht möglich, auch Aussagen über den Leistungsquotienten und die Erholungsfähigkeit der Interneuren zu machen.

Für die unterschiedliche Überlebensdauer einzelner Motoneuren dürfte die Lage im Kapillarbett ausschlaggebend sein. In den Untersuchungen von K r o g h 1950, B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 und M e r k e r 1969 wird berichtet, daß bestimmte Teile des Rückenmarkes zuerst nach Ischaemie geschädigt werden (Umgebung des Zentralkanals, zentral-mediale Region). Es ist anzunehmen, daß die venösen Kapillargebiete zuerst von der Ischaemie betroffen werden. Dabei dürfte eine Senkung des P_{O_2} unter die kritische Schwelle von 17 - 19mm Hg sich auf diejenigen Gewebsstrukturen schädigend auswirken, die am Ende eines Gebietes von Gefäßaufzweigungen gelegen sind (O p i t z und S c h n e i d e r). Jedoch scheinen im Nervengewebe auch unterschiedliche Läsionsgrade einzelner Zelltypen gegen Ischaemie zu bestehen. Die sensiblen Spinalganglienzellen erweisen sich nach Untersuchungen von B l a s i u s und Z i m m e r m a n n 1957 als besonders resistent gegenüber einem O_2 -Mangel.

III. Versuch einer Verknüpfung der physiologischen und der morphologischen Ergebnisse

Vergleicht man die Funktion

$$\log Ea = k_2 \cdot \log A + \log Ea_0 \quad (7)$$

mit der Funktion

$$\log Sc/Vm = k_3 \cdot \log A + \log Sc/Vm_0 \quad (8)$$

so ist eine gewisse Gleichsinnigkeit im Aufbau wie in der Tendenz der Steigung beider Gleichungen festzustellen, denn k_2 und k_3 sind jeweils negativ. Für den Gesamtbereich der ermittelten Werte beider Funktionen ist daher eine gleichlaufende Tendenz zu erwarten. Die Sc/Vm -Werte können in ihrer absoluten Größe jedoch nicht vollständig mit den physiologischen Meßwerten übereinstimmen. Dies ergibt sich aus folgenden Überlegungen:

Die physiologischen Werte enthalten mehr Teilvorgänge, als den morphologischen Strukturänderungen entspricht; jene stellen die Gesamtgröße eines komplexen Vorganges dar, dessen Teilgrößen in der ischaemischen Schädigung und der postischaemischen Erholung liegen. Für den morphologischen Bereich erfaßt Gleichung (8) diejenigen Vorgänge, welche ursächlich auf das Versagen einer in den Mitochondrien liegenden, vermutlich ATP-abhängigen Ionenpumpe zurückzuführen sind, nicht aber die Vorgänge, die in der Erholungsphase eine Rolle spielen. Eine Erklärung für den verschiedenen Steigungskoeffizienten und die unterschiedliche Achsenabschnittsgröße ist zum einen darin zu suchen, daß die Schädigung der Mitochondrien erst nach Versagen der Energiegewinnung innerhalb und außerhalb dieser Organelle auf osmotischer Basis zustande kommen dürfte. Zum anderen ist die physiologische Erholungsfunktion (7) der Mitochondrien der Motoneuren Ausdruck der Erholung, die durch das Wiedereinsetzen der oxydativen Atmungsvorgänge bedingt ist, wobei der letztendlich passive, physikochemische Osmoseprozeß durch einen biochemisch aktiven Transportmechanismus wieder reversibel gemacht wird.

Jedoch ist es hier aus der gemeinsamen Abhängigkeit von A möglich, für den Bereich, der dem maximalen Zeitraum der Erholung entspricht, die Gleichungen (7) und (8) durch Auflösung nach der Abklemmzeit A hin rechnerisch zu verknüpfen. Dabei entsteht eine Beziehung zwischen dem Logarithmus des Sc/Vm-Quotienten und dem des Erholungsaufwandes Ea, die der folgenden Formel entspricht:

$$\log Sc/Vm = 0,565 \cdot \log Ea - 0,020 \quad (13)$$

Eine graphische Darstellung dieser Beziehung gibt Abb.13.

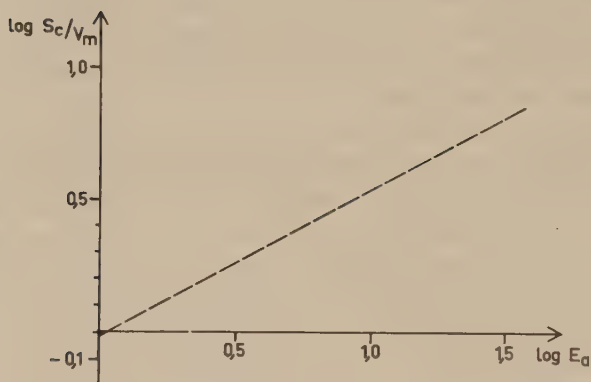


Abb.13 Beziehung zwischen dem Logarithmus des Sc/Vm-Quotienten und dem des Erholungsaufwandes Ea.
Die Beziehung wurde aus 500 ultrastrukturellen und 13 physiologischen Meßwerten entwickelt.

Mit Hilfe dieser Funktion ist es möglich, aus der Bestimmung des physiologischen Erholungsaufwandes E_a den Sc/Vm -Quotienten als ultrastrukturelle Variable im vorhinein rechnerisch zu ermitteln.

Eine Begrenzung für diese funktionelle Verknüpfung ist durch die Strukturerhaltungszeit gegeben, die wir bei unseren Versuchen in einem Bereich zwischen 15 - 20 Minuten Abklemmdauer ansetzen müssen. Mit dem Antransport des Sauerstoffes und der Substrate geht gleichzeitig eine Eliminierung der Stoffwechselschlacken und eine energieverzehrende Restitution der Ultrastruktur einher, die den Vorgängen bei der Erholung der Ganglienzelle zusätzlich Energie entzieht. Dies ist der Grund dafür, daß der Erholungsaufwand F_a entsprechend verringert wird.

Die Komplexität der Erholungsvorgänge und ihrer Teilgrößen: der Schwundzeit S , des Erholungsaufwandes F_a und des Sc/Vm -Quotienten bedürfen zur weiteren Differenzierung einer Teilbestimmung der sich dabei abspielenden Vorgänge.

Neben weiteren Untersuchungen über die morphologische Struktur des Kapillarbettes der Ganglienzellen im Rückenmark wären zusätzliche vergleichende, biochemische Bestimmungen der Konzentration der Energiestoffwechselprodukte und ihrer Zwischenstufen notwendig.

E. Zusammenfassung

Nach der Methode von B l a s i u s 1950 wurde durch zeitlich begrenzte Abklemmung der Aorta abdominalis das Lumbalmark des Kaninchen und damit das Reflexzentrum für den Quadriceps-Eigenreflex (QER) dem Einfluß einer Ischaemie unterworfen. Zur Prüfung der Leistungs- und Erholungsfähigkeit der Vorderhorn-ganglienzellen wurden die Reflexausschläge des in gleichmäßi-gem Takt durch ein Hammerwerk ausgelösten QER registriert. Die Versuche wurden an 31 Kaninchen beiderlei Geschlechtes ausgeführt.

Für die elektronenmikroskopische Auswertung wurden Präparate der motorischen Vorderhornzellen nach einer Vital-fixierung gewonnen. Bei der photographischen Auswertung der Dünnschnitte im Maßstab 1:56000 wurde die relative Stoff-wechselaktivität der Mitochondrien der Vorderhornzellen nach einem von S i t t e beschriebenen Punktzählverfahren (Bestim-mung des Quotienten Sc/Vm) ermittelt. Dabei stellt Sc den An-teil der *C ristae mitochondriales* am Mitochondrienvolumen Vm dar.

1. Die von B l a s i u s 1950, 1957 gefundenen Be-ziehungen zwischen der maximalen Funktionszeit Fm bzw. der Abklemmdauer A und q konnten von uns bestätigt werden.

2. Die Beziehung zwischen der Fm -Zeit und dem rela-tiven Leistungsaufwand La (Quotient aus der Hüllkurvenfläche der Reflexausschläge und der größten Reflexamplitude h_{max} während der Fm -Zeit) wurde von uns rechnerisch ermittelt. Es ergab sich die Funktion:

$$Fm = g_1 - m \cdot \frac{1}{La - d_1} \quad (5)$$

3. Die Schwundzeit S der Vorderhornganglienzellen war im Bereich längerfristiger Ischaemie von der Ischaemie-dauer A nach Art folgender Funktion abhängig:

$$\log S = k_1 \cdot \log A + \log S_0 \quad (6)$$

$$(k_1 = 1,341 \text{ und } \log S_0 = -0,899)$$

4. Zwischen dem Erholungsaufwand E_a der Ganglienzellen, der durch Planimetrierung der Hüllkurvenfläche der wiederkehrenden Reflexausschläge über 60 sec nach Lösung der Ischaemie ermittelt wurde, und der Ischaemiezeit A wurde eine analoge Funktion gefunden:

$$\log E_a = k_2 \cdot \log A + \log E_{a_0} \quad (7)$$

$$(\log E_{a_0} = 3,299 \text{ und } k_2 = -0,973)$$

Die Zunahme der Ischaemiedauer A wirkte mithin auf die Schwundzeit S verlängernd, jedoch auf den Erholungsaufwand E_a verengernd.

5. Durch Verknüpfung der Gleichung (6) und (7) gelang es, eine mathematisch formulierbare Funktion zwischen dem Logarithmus der Schwundzeit S und dem des Erholungsaufwandes E_a nach folgender Formel zu entwickeln:

$$\log E_a = -0,772 \cdot \log S + 2,641 \quad (12)$$

6. Wurde der Quotient Sc/Vm der Mitochondrien der motorischen Vorderhornzellen mit der Abklemmdauer A in Beziehung gesetzt, ergab sich folgende Funktion:

$$\log Sc/Vm = k_3 \cdot \log A + \log Sc/Vm_0 \quad (8)$$

$$(\log Sc/Vm_0 = 1,842 \text{ und } k_3 = -0,550)$$

7. Durch rechnerische Umformung und Kombination der Gleichungen (7) und (8) gelingt es, eine Beziehung zwischen dem Logarithmus des Erholungsaufwandes E_a und dem Sc/Vm -Quotienten nach Art folgender Funktion herzustellen:

$$\log Sc/Vm = 0,565 \cdot \log E_a - 0,020 \quad (13)$$

Die Ähnlichkeit der funktionellen Beziehungen zwischen S bzw. E_a und A sowie zwischen Sc/Vm und A legt den Schluß nahe, daß nach Ischaemie der Ganglienzellen der Schwund der O_2 - und Glucosereserven und die Änderung des metabolischen Zustandes der Mitochondrien der Zelle mit der Verringerung von E_a und der Quellung der Mitochondrien bei gleichzeitigem Schwund der Cristae mitochondriales in causaler Verknüpfung stehen.

Es wurde der Versuch unternommen, die neugefundenen Gesetzmäßigkeiten über Funktion und Ultrastruktur der Ganglienzellen im Zusammenhang mit den biochemischen Prozessen der Energiegewinnung zu diskutieren.

F. Literaturverzeichnis

- Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen . **Stuttgart**, 4. Aufl. (1962).
- Barcroft, J.: in Lancet, 2: 485 (1920).
- Becker, H. und W. Blasius: Zbl. ges. Neurol. Psychiat. 119, 162 (1952).
- Blasius, W.: Z. Biol. 103, 209 (1950).
- : Z. Biol. 104, 121 (1951).
- : Acta neurovegetativa (Wien), 4, 331 (1952).
- : Pflüg. Arch. 262, 60 (1955).
- : "Allgemeine Physiologie des Nervensystems" in Landois-Rosemann "Lehrbuch der Physiologie des Menschen", 28. Aufl., Bd. II, p 629 München-Berlin (1962).
- : u. R. Repges, M. K. Schafé: Z. Biol. 115, 248 (1966).
- : u. H. L. Thron; Z. Biol. 107, 161 (1954).
- : u. H. Zimmermann: Pflüg. Arch. 264, 618 (1957).
- : Acta histochem. (Jena) 5, 283 (1958).
- Colson: Zit. nach Blasius (1950).
- Craigie, B. H.: J. comp. Neur. 33, 193 (1922).
- Ehrlich u. Brieger: Z. Klin. Med. 7, 155 (1884).
- Fredericq, L.: Zit. nach Blasius (1950).
- Gelfan, S. and I. M. Tarlov: Differential vulnerability of spinal structures , New York, Medical College New York City (1954).
- Gelfan, S. and I. M. Tarlov: J. Physiol. (Lond) 146, 594 (1959).
- Gelfan, S. and I. M. Tarlov: Fed. Proc. 21, 368 (1962).
- Green, E. E.: in Gaebler, O. H.: Enzymes units of biological structure and function, p 465, Internat. Symp. New York (1956).

- Grimley, P. M., I. M. Albrecht and H. J. Michelitsch:
Stain. Technol. 40, 357 (1965).
- Hager, H., W. Hirschmann and W. Scholz: Aerospace Med.
31, 379 (1960).
- Harreveld, A. van: in Progress in brain research, vol. 12,
p 280, (eds. J. C. Eccles and J. P. Schadé)
Amsterdam-London-New York (1964).
- Kerr, St. E.: J. biol. Chem. 110, 625 (1935).
- Kerr, St. E.: J. biol. Chem. 145, 647 (1942).
- Krebs, H.: in Greenberg: Chemical pathways of metabolism,
2. Ed. vol. I., p 129 New York and London (1960).
- Krogh, E.: Act. physiol. scand. 10, 271 (1945).
- Krogh, E.: Act. physiol. scand. 20, 263 (1950).
- Lehninger, A.: Physiol. Rev. 42, 467 (1962).
- Lehninger, A.: Bioenergetik, Stuttgart (1970).
- Leon, H. A., S. F. Cook and J. P. Hannon: Exp. Cell Res.
14, 231 (1958).
- Luft: Zit. nach Merker (1969).
- Merker, G.: Z. Zellforsch. 95, 568 (1969).
- Mittenecker, E.: Planung und statistische Auswertung von
Experimenten, Wien, (1964).
- Mölbart, E. und D. Guerriore; Beitr. path. Anat. 117,
32 (1957).
- Netter, H.: Theoretische Biochemie, Berlin-Göttingen-
Heidelberg (1959).
- Opitz, E. und K. Lorenzen: Pflüg. Arch. 253, 412 (1951).
- Opitz, E. und M. Schneider: Erg. Physiol. 46, 126 (1950).
- Richardson: Zit. nach Merker (1969).
- Rouillier, Ch.: Int. Rev. Cytol. 9, 227 (1960).
- Sabatini, D. S., K. Bensch and R. J. Barrnett: J. Cell
Biol. 17, 19 (1963).
- Schiffer, J.: Zbl. med. Wiss. 7, 579 (1869).
- Singer, J.: Sitzber. d. Kaiserl. Akad. d. Wiss. (Math.-
Naturw.-Kl.) 96, (III. Abt.), 136 (1887).

- Sitte, H.: in Quantitative Methods in Morphology :ed. by
E. R. Weibel and H. Elias, Berlin-Heidelberg-
New York, p 167 (1967).
- Sjöstrand, T.: Scand. Arch. Physiol., Suppl. 71, (1935).
- Sörensen: Zit. nach Merker (1969).
- Stensen, N.: (1667) Zit. nach Blasius (1950).
- Swammerdam, J.: Zit. nach Blasius (1950).
- Tarlov, J. M. and S. Gelfan: Transact. Amer. neurol. Ass.
120 (1960).
- Thorn, W: Biochem. Z. 321, 361 (1951).

Herrn Professor Dr. B l a s i u s bin ich besonders zu Dank verpflichtet für die Überlassung des Themas und die wertvollen Anregungen. Herrn Professor Dr. O k s c h e danke ich, daß er seine elektronenmikroskopische Forschungseinrichtung für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt hat.

Für die Herstellung der licht- und elektronenmikroskopischen Präparate und Aufnahmen sage ich Frau Dr.

M e r k e r von der Abteilung für Angewandte Physiologie Gießen meinen herzlichen Dank. Ferner gilt mein Dank Herrn Professor Dr. D u d e c k und Herrn Privatdozent Dr.

R e p g e s für die erteilten Ratschläge.

Weiter danke ich den Mitarbeitern des Physiologischen Institutes Gießen Frau J a n z und Herrn S c h m i d t.

L e b e n s l a u f

Am 10. März 1943 wurde ich, Wolfgang Heinrich B r u n e, zu Jena geboren, als Sohn des Professor Dr. rer. nat. Heinrich Brune und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Hoffmann. Nach vierjähriger Grundschulzeit in Schorndorf / Baden-Württemberg und später in Göttingen besuchte ich von 1953 bis 1960 das altsprachliche Max Planck-Gymnasium in Göttingen. Durch die Berufung meines Vaters nach Gießen mußte ich 1961 die Schule wechseln und besuchte anschließend das Landgraf Ludwigs-Gymnasium, an dem ich im Februar 1962 die Reifeprüfung bestand. Vom Sommersemester 1962 bis zum Sommersemester 1968 widmete ich mich an der Justus Liebig-Universität dem Studium der Medizin. Dort bestand ich im Sommer 1968 die ärztliche Staatsprüfung.

Danach war ich als Medizinalassistent nacheinander in der Universitäts-Frauen-Klinik, in der Abteilung für Angewandte Physiologie des Physiologischen Institutes, in der Medizinischen Poliklinik und der Chirurgischen Klinik der Universität Gießen tätig.

Nach meiner Bestallung als Arzt bin ich seit April 1970 als Wissenschaftlicher Assistent an der Chirurgischen Universitätsklinik Gießen beschäftigt.

